

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4815041号  
(P4815041)

(45) 発行日 平成23年11月16日(2011.11.16)

(24) 登録日 平成23年9月2日(2011.9.2)

|                          |                |   |
|--------------------------|----------------|---|
| (51) Int. Cl.            | F 1            |   |
| A 6 1 K 36/28 (2006.01)  | A 6 1 K 35/78  | T |
| A 6 1 K 36/00 (2006.01)  | A 6 1 K 35/78  | X |
| A 6 1 K 31/352 (2006.01) | A 6 1 K 35/78  | Y |
| C 0 7 D 311/18 (2006.01) | A 6 1 K 31/352 |   |
| A 6 1 P 9/08 (2006.01)   | C 0 7 D 311/18 |   |

請求項の数 7 (全 10 頁) 最終頁に続く

|           |                               |           |   |
|-----------|-------------------------------|-----------|---|
| (21) 出願番号 | 特願2000-95624 (P2000-95624)    | (73) 特許権者 | 595023873<br>カウンスル・オブ・サイエンティフィック<br>・アンド・インダストリアル・リサーチ<br>インド国ニューデリー-110001, ラ<br>フィ・マーグ (番地表示なし) |
| (22) 出願日  | 平成12年3月30日 (2000.3.30)        | (74) 代理人  | 100095555<br>弁理士 池内 寛幸  |
| (65) 公開番号 | 特開2001-278876 (P2001-278876A) | (74) 代理人  | 100076576<br>弁理士 佐藤 公博  |
| (43) 公開日  | 平成13年10月10日 (2001.10.10)      | (74) 代理人  | 100107641<br>弁理士 鎌田 耕一  |
| 審査請求日     | 平成19年2月7日 (2007.2.7)          | (74) 代理人  | 100110397<br>弁理士 梶丘 圭司  |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 酸化窒素合成阻害剤として有用な化合物スコボレチンの単離方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

酸化窒素合成阻害剤として用いられる化合物スコボレチンをクソニンジン (*Artemisia annua*) から単離する方法であって、

a) 異なる植物部分の乾燥粉末材料を比が 1 : 5 の水性アセトニトリル溶媒を用いて 6 から 8 時間抽出し、

b) 前記抽出液を元の体積の 30% まで真空下で濃縮し、

c) 前記濃縮した抽出液に非極性ハロゲン化溶媒を加えて分液操作をし、スコボレチンを前記ハロゲン化溶媒内に移動させ、

d) 無水硫酸ナトリウム上で前記ハロゲン化溶媒を乾燥し、前記溶媒を蒸発させ、

e) 残留物をメタノール中で結晶化し、前記結晶を濾過し、

f) 前記濾液を濃縮し、シリカゲル上でクロマトグラフィーにかけ、

g) スコボレチンをクロロホルム/メタノール混合溶媒で溶出し、スコボレチンを含む画分を結晶化し、純粋なスコボレチン化合物を得ることを含む方法。

【請求項 2】

抽出に用いられる前記植物部分が茎、葉、根からなる群から選択される少なくとも一つの部分である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

アセトニトリルと水との溶媒比が 9 : 1 から 1 : 9 である請求項 1 または 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記ハロゲン化溶媒がクロロホルム、ジクロロメタン、四塩化炭素およびそれらの混合溶媒から選択される請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 5】

前記スコポレチンがクロロホルム、アセトン、メタノールおよびそれらの混合溶媒から選択される溶媒中で結晶化される請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 6】

前記スコポレチンがシリカゲル上でカラムクロマトグラフィーを用いて母液から得られ、粗の抽出物とシリカゲルとの比が 1 : 5 から 1 : 20 の範囲である請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

10

## 【請求項 7】

クソニンジンの異なる部分から単離されるスコポレチンが茎に 0.25 から 0.30 %、葉に 0.16 から 0.20 % および根に 0.003 から 0.004 % の範囲で存在する請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は、酸化窒素合成阻害剤として有用な化合物スコポレチンを植物クソニンジンおよび他の植物ファミリーから単離する方法に関する。スコポレチンは、クマリングループの化合物に属する。スコポレチン(7-ヒドロキシ-6-メトキシクマリン)は、ベンゾ-

20

## 【0002】

## 【従来の技術】

天然のクマリンは、生体に種々の顕著な効果を及ぼす。クマリンは、抗菌性、血管拡張(vasodilatory)および利尿効果、抗凝血特性、肝臓保護および呼吸刺激などの多数の薬理的(pharmacological)または生理学的な活性を示す。スコポレチンは、非常に良好な成長阻害特性を示した。(シリング DG (Shilling DG) およびヨシカワ F (Yoshikawa F)、Amerchem. Soc. Symp. Series, 330: 335-342)。最近では、スコポレチンはネズミのマクロファージにおける酸化窒素(NO)の合成を阻害したことが報告されている。マクロファージは、感染および腫瘍発達に対する最終防御において主要な役割を果たし、この活性は、いくらかの媒介を生成することによって調節される。マクロファージによるNOの生産は、腫瘍細胞、細菌類および寄生虫を殺したり、またはその成長の阻害を媒介する。従って、iNOSの阻害剤である、有効かつ経済的なスコポレチン源を潜在的な治療および商業上の目的で将来用いるために開発することは価値のあることである(タイヒュンカンら(Tai-Hyun Kang et al.): スコポレチン: Artemisia feddi から誘導可能なNO合成阻害活性構成要素、Planta Medica, 65: 400-403, 1999; Ttraxinus rhynchobhyeli からインビトロ誘導可能なNO合成阻害活性構成要素、Plant Medica, 65: 656-658, 1999)。

30

40

## 【0003】

スコポレチンは、植物界で広範囲に分布し、植物の異なる部分(根、果実、葉、茎等)から単離されるが、大抵の場合、いくつかの関連物質(related members)が共に見出されるため、単離するのは困難である。初期の頃からの一般的なクマリンの単離方法としては、抽出溶媒の極性を次第に増加させて(石油エーテル、ベンゼン、エーテル、アセトンまたはメタノールと)乾燥植物を順次抽出することが通常行われている。

クマリンの単離に用いられる従来の方法によると、乾燥粉末材料を95%のメタノール/エタノール(95% methanol/ethanol)で抽出し、濃縮した抽出物を10%のアルカリ溶液で処理した。アルカリ性溶液をエーテルで抽出し、脂肪材料(fa

50

t t y m a t e r i a l ) を除去した。水溶液を酸性にし、エーテルまたはクロロホルムで抽出し、粗のクマリンを得た。シリカゲルまたはアルミナ上のカラムクロマトグラフィーでさらに精製を行い、純粋なクマリンを得た。特定のクマリン（例えば、ウンベリフェロン、スコポレチン）は、昇華方法で植物繊維から単離され得る（A b u - M u s t a f a、E . A ; E l - T a w i l、B . A . H . および M . B . E . F a y e z ; 植物化学（P h y t o c h e m i s t r y ）、3、7 0 1 （1 9 6 4 ））。

【0004】

しかし、酸・塩基処理によるクマリンの単離方法は理想的ではない。なぜなら、クマリンの劣化を避けることはほとんどできないからである。これは、目的化合物のロスにつながり、目的化合物それ自体よりも副生物（a r t i f a c t s ）を抽出することになってしま 10  
 しまう。他の方法では、昇華による精製は、熱劣化と共に副生物の生成を伴い得る。そのため回収の全収率は減少する。このように、商業上で活用するためのスコポレチンを多く含有する植物も、スコポレチンの大規模な単離方法もこれまで報告されていない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、スコポレチンを多く含有する新規の植物および/または植物部分を探究 20  
 することである。

本発明の他の目的は、スコポレチンを選択的に抽出するための溶媒を選択することである。

本発明のさらに他の目的は、純粋なスコポレチンを単離するための経済的な方法を開発す 20  
 ることである。

【0006】

【課題を解決するための手段】

従って、本発明は、植物クソニンジンおよび他の植物ファミリーから酸化窒素合成阻害剤化合物スコポレチンを単離する方法であって、水性アセトニトリル溶媒を用いて粉末植物部分に対し抽出操作をし、さらに塩化物溶媒を用いて分液操作し、溶媒を蒸発させた後、残留物をクロマトグラフィーにかけ、結晶化することにより純粋なスコポレチンを生産することを 30  
 含む方法を提供する。

【0007】

方法の新規性

1 . スコポレチンを抽出するための植物部分を選択することにより、収率が向上し、処理コストが減少した。

2 . 水性アセトニトリルを用いて植物部分を抽出することにより、メタノールまたはエタノールなどの他の極性溶媒を用いるよりも、より経済的かつ高い収率でスコポレチンを生産 30  
 できる。

3 . この方法では、スコポレチンを単離するために酸・塩基処理を用いないことにより、収率を向上させた。

4 . 水性抽出物からハロゲン化非極性相にスコポレチンを選択的に移動させることによって、純粋なスコポレチンを簡単に精製し、単離することができた。

5 . 粗の抽出物を精製することにより、クロマトグラフィーの前に50%のスコポレチンを結晶化できる。 40

6 . この方法により、溶媒およびシリカゲルの再利用が可能になる。

7 . これらの利点は、スコポレチンの大規模な生産に著しく経済的な価値がある。

【0008】

【発明の実施の形態】

本発明は、酸化窒素合成阻害剤として用いられる化合物スコポレチンをクソニンジンおよび他の植物ファミリーから単離する方法であって、

a ) 異なる植物部分の乾燥粉末材料を比が1 : 5の水性アセトニトリル溶媒を用いて6から8時間抽出し、

b ) 前記抽出液を元の体積の30%まで真空下で濃縮し、 50

- c) 前記濃縮した抽出液に非極性ハロゲン化溶媒を加えて分液操作をし、スコポレチンを前記ハロゲン化溶媒内に移動させ、  
 d) 無水硫酸ナトリウム上で前記ハロゲン化溶媒を乾燥し、前記溶媒を蒸発させ、  
 e) 残留物をメタノール中で結晶化し、前記結晶を濾過し、  
 f) 前記濾液を濃縮し、シリカゲル上でクロマトグラフィーにかけ、  
 g) スコポレチンをクロロホルム/メタノール混合溶媒で溶出し、スコポレチンを含む画分を結晶化し、純粋なスコポレチン化合物を得ることを含む方法を提供する。

【0009】

本発明の1つの実施形態において、スコポレチンを単離するためにクソニンジン植物を選択した。スペインからのクソニンジンガゼル (ariel) 部分は0.02%のスコポレチンを報告し、英国(カルト(cult))は0.034%のスコポレチンを報告した。中国でも全植物からのスコポレチンの存在が報告された(ブラウン、G.D.(Brown, G.D.); クソニンジンからの2つの新規の化合物(Two new compounds from Artemisia annua); J. Nat. Prod. 58, 300 (1992); Macro, J.A.; Sawz, J.F.; Bea, J.F.; Barber, O.; クソニンジンからのフェノール構成要素(Phenolic constituents from Artemisia annua: Pharmazie 45, 382-383 (1990); Liu, H.M.; Li, G.L., Wu, H.Z.; Quinghaoの構成要素に関する研究(Studies on the constituents of Quinghao): Yao Hsuch Hsuch Pao, 37, 129-143 (1979))。 10

インドのCIMAPでは、Lucknowは、高含有量のアルテミシニンおよびバイオマス(茎および葉)を生産するクソニンジン「Jeevan raksha」の新種を開発した。アルテミシニン(Artemisinin)およびその誘導体は、クロロキン(chloroquine)耐性で、多数の薬剤に耐性をもつ、深刻で複雑なマラリアに対して有力である。クソニンジン植物は唯一のアルテミシニン源である。 20

【0010】

スコポレチンを検出するため、新種のクソニンジン植物の3つの主要な部分すべてをHPLCでスクリーニングした。異なる部分で得られたスコポレチンの含有量は、0.2%(葉)、0.3%(茎)および0.004%(根)であった。このスコポレチンの収率は、他に報告されている植物と比較して非常に高い。植物クソニンジンの茎部分は廃棄物である。なぜなら、茎にはアルテミシニンは存在しないからである。植物の茎部分のバイオマスは葉の5倍より多い。従って、スコポレチンを単離するために植物クソニンジンの茎部分を選択した。茎部分は色素および脂肪材料が少ないため、スコポレチンの単離および精製が簡単であることも見出された。 30

【0011】

従来技術では、植物材料を抽出するために非極性溶媒は用いられず、その結果クマリンの回収が少なかったことが認められている。さらに、クマリンを抽出するために極性溶媒(メタノールおよびエタノール)を用いると、より多くの色素および脂肪材料を含む全抽出物がより多い量で得られた。脂肪材料および色素を分離することは困難な作業である。本発明では、抽出に水性アセトニトリル溶媒を選択したため、より少ない量の色素および脂肪材料を含むスコポレチンをより多く生産できた。また、アセトニトリルから水を分離し、純粋な溶媒を回収して再利用することははるかに容易である。 40

従来技術では、スコポレチンを酸・塩基処理または昇華方法によって粗の抽出物から精製していたが、この方法では、転移反応および熱分解のためスコポレチンの量が減少する。改良された本発明の方法では、水相を塩化溶媒(四塩化炭素、ジクロロメタン、クロロホルム)を用いて分液操作することによって、クマリンを水性抽出物から非極性相に選択的に移動させる。このステップを用いることによって、大半の色素および脂肪材料を極性相に残すことができ、これによって、非極性相中に、粗の抽出液中で容易に結晶化可能な( 50

50から60%)スコポレチンを濃厚にすることができる。結晶化後母液に残ったスコポレチンは、シリカゲル上で比がわずか1:10のカラムクロマトグラフィーにかけられ、純粋なスコポレチンの単離は完了する。スコポレチンを分液操作により水性抽出液から非極性溶媒中に移動すると、粗の抽出物のかさが60から70%減少する。これにより、処理中のシリカゲルおよび溶媒の量が少なくて済む。

#### 【0012】

方法は以下の工程からなる。

1. クソニンジンの茎を陰で乾燥させ、粉碎すること。
2. 冷浸出により水性アセトニトリル溶媒を用いて粉末状のクソニンジンを抽出すること。
3. 真空下で全抽出液を濃縮すること。
4. 水性アセトニトリル相をハロゲン化溶媒と共に分液操作すること。
5. 全ハロゲン化溶媒抽出液 (total halogenated extract) から水分を除去すること。
6. ハロゲン化溶媒を蒸留し、残りの抽出物を得ること。
7. スコポレチンを残りの抽出物から結晶化すること。
8. 母液の濾過および濃縮。
9. シリカゲル上で母液をカラムクロマトグラフィーにかけ、純粋なスコポレチンを回収すること。

#### 【0013】

本発明は、これまで公知であった方法の欠点を克服する、植物クソニンジンからスコポレチンを抽出および単離する方法を提供する。本発明は、特に、天然の源から酸化窒素合成阻害剤化合物スコポレチンをより安価でかつより高い収率で得る方法を提供する。

従って、本発明は、クソニンジンからスコポレチンを抽出および単離する方法であって、植物部分、好ましくは、クソニンジンの乾燥した茎粉末を1:5の比の水溶性アセトニトリル溶媒を用いて抽出し、抽出液を真空下で濃縮し、濃縮した抽出液を非極性ハロゲン化溶媒と共に分液操作し、ハロゲン化溶媒を蒸留し、残留物をメタノール中で結晶化し、スコポレチンを濾過し、母液を濃縮し、シリカゲル上でクロマトグラフィーにかけ、純粋なスコポレチンを得ることを含む方法を提供する。

本発明のある実施形態では、抽出に用いられる溶媒は、アセトニトリルと水との比が1:9から9:1の様々な比で選択される。

本発明の他の実施形態では、分液操作に用いられるハロゲン化溶媒は、ジクロロメタン、四塩化炭素、クロロホルム等から選択される。

本発明の他の実施形態では、スコポレチンを抽出するための植物部分は、茎、葉、根等から選択される。

本発明の他の実施形態では、スコポレチンの分離は、シリカゲル上で行われ、粗の抽出物とシリカゲルとの比は、1:5から1:20、好ましくは1:5、1:10または1:20から選択される。

本発明のさらに他の実施形態では、スコポレチンは、セリ科植物、ミカン科植物、キク科植物、マメ科植物、クワ科植物およびナデシコ科植物 (Caryophyllaceae) などの植物ファミリーから抽出および単離される。

本発明のさらに他の実施形態では、スコポレチンは、クロロホルム、アセトン、メタノールおよびその混合物から選択される溶媒中で結晶化される。

本発明のさらに他の実施形態では、クソニンジンの異なる部分から単離されるスコポレチンは、茎に0.25から0.30%、葉に0.16から0.20%、および根に0.003から0.004%の範囲で存在する。

以下の実施例で提供される本発明の詳細は、例示を目的とし、本発明の範囲を限定するものとして解釈すべきではない。

#### 【0014】

#### 【実施例】

## 実施例 1

## 抽出するための植物部分の選択

クソニンジンの異なる部分（葉、茎、根）におけるスコポレチンの含有量を比較検討した。0.1 g m ( g ) の乾燥粉末試料をメタノールで抽出した。この抽出物を濾過し、溶媒を蒸発させて乾燥した。抽出物を 1 m l のメタノールに溶解させた。各試料におけるスコポレチンの含有量を、フォトダイオードアレイ検出器を備えた H P L C ( 島津製作所社製、商品名 L C 8 A ( L C 8 A S h i m a d z u ) ) を用いて以下の動作条件、即ち、移動相アセトニトリル：水 ( 3 0 : 7 0 )、流量毎分 0.8 m l、検出波長 230 n m、メルク社製 10 μ m カラム、商品名 C 1 8 L i c h r o s o r b、( C 1 8 L i c h r o s o r b、Merck Germany ) での検出で見積もった。1 m g / 5 m l のメタノール溶液として調製した標準スコポレチンの校正曲線を用いて定量した。異なる植物部分で見積もったスコポレチンの含有量は以下の通りである。葉 ( 0.16 )、茎 ( 0.2 )、および根 ( 0.003 )。

【 0 0 1 5 】

## 実施例 2

## 抽出のための溶媒の選択

クソニンジンの茎粉末試料 ( 0.1 g m ( g ) ) を 10 m l の異なる溶媒 ( ジクロロメタン、クロロホルム、エチルアセテート、メタノール、アセトニトリル、水、メタノール：水 ( 9 : 1 )、エタノール：水 ( 9 : 1 )、およびアセトニトリル：水 ( 9 : 1 ) ) を用いて 24 時間冷浸出することにより抽出した。各抽出液を濾過し、真空下で蒸発させた。各抽出物を 1 m l の H P L C グレードメタノールに溶解し、スコポレチン含有量を H P L C 法で実施例 1 に記載するように見積もった。異なる溶媒中で記録されたクソニンジンの茎におけるスコポレチン含有量は以下の通りである。ジクロロメタン ( 0.016 % )、クロロホルム ( 0.16 % )、エチルアセテート ( 0.09 % )、メタノール ( 0.2 % )、エタノール ( 0.24 % )、アセトニトリル ( 0.22 % )、水 ( 0.28 % )、メタノール：水 ( 9 : 1、0.16 % )、エタノール：水 ( 9 : 1、0.23 % )、およびアセトニトリル：水 ( 9 : 1、0.30 % )。

【 0 0 1 6 】

## 実施例 3

## 茎からのスコポレチンの抽出および単離

クソニンジンの茎を粉末に粉碎した。粉末材料 ( 100 g m ( g ) ) をパーコレータ内で 10 % の水性アセトニトリル ( 5 × 500 m l ) を用いて 6 から 8 時間抽出した。全抽出液を、真空下で元の量の 30 % まで濃縮した。濃縮した水性抽出液をクロロホルム ( 5 × 200 m l ) と共に分液操作した。クロロホルム抽出液を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、溶媒を蒸発させ、2.0 g m ( g ) の残留物を得た。残留物を 25 m l のメタノールに再溶解し、冷蔵庫で 4 から 5 時間静置して結晶化させた。結晶化合物を濾過し、乾燥させ、純粋なスコポレチンを得た。結晶化プロセスを 2 回繰り返し、60 % の純粋な化合物を得た。濾液中の残りのスコポレチンをシリカゲル上で比が 1 : 20 のカラムクロマトグラフィーで単離し、クロロホルム中 4 % のメタノールでスコポレチンを溶出した。スコポレチンを含む画分から溶媒を留去し、結晶化により純粋なスコポレチンを得た。0.3 % のスコポレチンを含有する 100 g m ( g ) の茎粉末から 85 % の純粋なスコポレチンを得た。スコポレチンを融点、I R、<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C N M R、ならびに文献で報告されている質量スペクトルデータにより同定した。

【 0 0 1 7 】

## 実施例 4

## 茎からのスコポレチンの抽出および単離

クソニンジンの茎を粉末に粉碎した。粉末材料 ( 100 g m ( g ) ) をパーコレータ内で 30 % の水性アセトニトリル ( 5 × 500 m l ) を用いて 6 から 8 時間抽出した。全抽出液を、真空下で元の量の 30 % まで濃縮した。濃縮した水性抽出液をクロロホルム ( 5 × 200 m l ) と共に分液操作した。クロロホルム抽出液を無水硫酸ナトリウム上で乾燥さ

10

20

30

40

50

せ、溶媒を蒸発させ、2.1 g m ( g ) の残留物を得た。この残留物を25 m l のメタノールに再溶解し、冷蔵庫で4から5時間静置して結晶化させた。結晶化合物を濾過し、乾燥させ、純粋なスコボレチンを得た。結晶化プロセスを2回繰り返して、50%の純粋な化合物を得た。濾液中の残りのスコボレチンをシリカゲル上で比が1:10のカラムクロマトグラフィーで単離し、クロロホルム中2%のメタノールでスコボレチンを溶出した。スコボレチンを含む画分から溶媒を留去し、結晶化により純粋なスコボレチンを得た。0.3%のスコボレチンを含有する100 g m ( g ) の茎粉末から82%の純粋なスコボレチンを得た。

【0018】

実施例5

茎からのスコボレチンの抽出および単離

クソニンジンの茎を粉末に粉碎した。粉末材料(100 g m ( g ))をパーコレータ内で70%の水性アセトニトリル(5 x 500 m l )を用いて6から8時間抽出した。全抽出液を、真空下で元の量の30%まで濃縮した。濃縮した水性抽出液をクロロホルム(5 x 200 m l )と共に分液操作した。クロロホルム抽出物を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、溶媒を蒸発させ、2.30 g m ( g ) の残留物を得た。残留物を25 m l のメタノールに再溶解し、冷蔵庫で4から5時間静置して結晶化させた。結晶化合物を濾過し、乾燥させ、純粋なスコボレチンを得た。結晶化プロセスを2回繰り返して、40%の純粋な化合物を得た。濾液中の残りのスコボレチンをシリカゲル上で比が1:5のカラムクロマトグラフィーで単離し、クロロホルムでスコボレチンを溶出した。スコボレチンを含む画分から溶媒を留去し、結晶化により純粋なスコボレチンを得た。0.3%のスコボレチンを含有する100 g m ( g ) の茎粉末から80%の純粋なスコボレチンを得た。

【0019】

実施例6

葉からのスコボレチンの抽出および単離

クソニンジンの葉を粉末に粉碎した。粉末材料(100 g m ( g ))をヘキサン(5 x 400 m l )を用いて脱脂した。葉を脱脂した後、残りのしぼりかすをパーコレータ内でさらに70%の水性アセトニトリル(5 x 500 m l )を用いて6から8時間抽出した。全抽出液を、真空下で元の量の30%まで濃縮した。濃縮した水性抽出液をクロロホルム(5 x 200 m l )と共に分液操作した。クロロホルム抽出液を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、溶媒を蒸発させ、2.0 g m ( g ) の残留物を得た。残留物を25 m l のメタノールに再溶解し、冷蔵庫で4から5時間静置して結晶化させた。結晶化合物を濾過し、乾燥させ、純粋なスコボレチンを得た。結晶化プロセスを2回繰り返して、30%の純粋な化合物を得た。濾液中の残りのスコボレチンをシリカゲル上で比が1:20のカラムクロマトグラフィーで単離し、クロロホルム中4%のメタノールでスコボレチンを溶出した。スコボレチンを含む画分から溶媒を留去し、結晶化により純粋なスコボレチンを得た。0.23%のスコボレチンを含有する100 g m ( g ) の葉の粉末から80%の純粋なスコボレチンを単離した。

【0020】

【発明の効果】

本発明の主題であるスコボレチンの抽出および単離の方法は以下に示す多くの利点を有する。

1. 本方法では、従来技術で全クマリンを単離するために用いられていた、スコボレチンの含有量を減少させ得る酸・塩基処理法を用いない。
2. 水性アセトニトリル溶媒による抽出は、経済的で、メタノール、エタノールおよび水などの他の極性溶媒を用いるよりも高い収率でスコボレチンを得ることができる。
3. クロマトグラフィーの前に50%のスコボレチンを結晶化させるため、シリカゲルの量が減少した。
4. この方法により、溶媒の再利用が可能になった。
5. 抽出するための植物部分として茎を選択することによって、スコボレチンの収率が向

10

20

30

40

50

上し、生産コストが減少した。これは、クソニンジンでは、茎はアルテミシニンを含まず、廃棄材料であるからである。

6．クソニンジンでは、茎中のスコポレチン含有量が高いこと、茎が葉よりも5倍のバイオマスを含むこと、および茎部分には色素が少ないことにより、精製が容易である。

7．クソニンジンからスコポレチンを大規模に生産するのに非常に経済的であるという利点がある。

## フロントページの続き

- (51) Int. Cl. F I
- |         |       |           |         |       |
|---------|-------|-----------|---------|-------|
| A 6 1 P | 9/12  | (2006.01) | A 6 1 P | 9/08  |
| A 6 1 P | 31/04 | (2006.01) | A 6 1 P | 9/12  |
| A 6 1 P | 33/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 31/04 |
| A 6 1 P | 35/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 33/00 |
|         |       |           | A 6 1 P | 35/00 |
- (72)発明者 ダラム チャンド ジャイン  
インド国、ユー．ピー、ラックナウ 2 2 6 0 1 5、セントラル インスティテュート オブ メ  
ディシナル アンド アロマティック プランツ内
- (72)発明者 ネラジ パント  
インド国、ユー．ピー、ラックナウ 2 2 6 0 1 5、セントラル インスティテュート オブ メ  
ディシナル アンド アロマティック プランツ内
- (72)発明者 マダン モハン グウプタ  
インド国、ユー．ピー、ラックナウ 2 2 6 0 1 5、セントラル インスティテュート オブ メ  
ディシナル アンド アロマティック プランツ内
- (72)発明者 ラジェンドラ シン バクニ  
インド国、ユー．ピー、ラックナウ 2 2 6 0 1 5、セントラル インスティテュート オブ メ  
ディシナル アンド アロマティック プランツ内
- (72)発明者 ラム キショール ベルマ  
インド国、ユー．ピー、ラックナウ 2 2 6 0 1 5、セントラル インスティテュート オブ メ  
ディシナル アンド アロマティック プランツ内
- (72)発明者 スディーブ タンドン  
インド国、ユー．ピー、ラックナウ 2 2 6 0 1 5、セントラル インスティテュート オブ メ  
ディシナル アンド アロマティック プランツ内
- (72)発明者 シフ クマール グウプタ  
インド国、ユー．ピー、ラックナウ 2 2 6 0 1 5、セントラル インスティテュート オブ メ  
ディシナル アンド アロマティック プランツ内
- (72)発明者 アミット テワリ  
インド国、ユー．ピー、ラックナウ 2 2 6 0 1 5、セントラル インスティテュート オブ メ  
ディシナル アンド アロマティック プランツ内
- (72)発明者 アツル プラカシュ カホール  
インド国、ユー．ピー、ラックナウ 2 2 6 0 1 5、セントラル インスティテュート オブ メ  
ディシナル アンド アロマティック プランツ内
- (72)発明者 スシル クマール  
インド国、ユー．ピー、ラックナウ 2 2 6 0 1 5、セントラル インスティテュート オブ メ  
ディシナル アンド アロマティック プランツ内

審査官 深谷 良範

- (56)参考文献 特開平08 - 026969 ( J P , A )  
国際公開第97 / 039355 ( WO , A 1 )  
DJERMANOVIC, M., et al., J. Serb. Chem. Soc., 62(2), pp.113-116 (1997)  
MARCO, J.A., et al., Pharmazie, 45(5), pp.382-383 (1990)  
WU, T.-S., et al., Phytochem., 50, pp.509-512 (1999)  
AGUILAR, M.I., et al., Phytochem., 33(5), pp.1161-1163 (1993)  
IINUMA, M., et al., Phytochem., 33(5), pp.1241-1245 (1993)  
HARMALA, P., et al., J. Chromatogr., 507, pp.367-380 (1990)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07D 311/

A61K 35/

REGISTRY/CAPLUS(STN)

MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

J Dream II